

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Tentang Tanaman Bawang Dayak *Eleutherine palmifolia*

Ditinjau dari kandungan kimianya, potensi umbi bawang dayak sebagai tanaman obat multifungsi sangat besar. Penggunaannya sebagai bahan tambahan pada masakan juga semakin populer. Namun demikian, penelitian tentang umbi bawang dayak belum banyak dilakukan, terutama terkait dengan khasiatnya sebagai antimikroba. (Depkes, 2001).



Gambar 2.1 *Eleutherine palmifolia* (Depkes, 2001).

2.1.1 Klasifikasi (Depkes, 2001)

Secara taksonomi, tanaman bawang dayak memiliki jalur klasifikasi yaitu:

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledonae
Bangsa	: Liliales
Suku	: Liliaceae
Marga	: Eleutherine
Jenis	: <i>Eleutherine palmifolia</i>

2.1.2 Nama Daerah

Bawang dayak secara umum dikenal di Indonesia dengan nama bawang kapal dan bawang merah hutan pada Buletin Flora Malesiana. Selain nama umum tumbuhan bawang dayak juga memiliki beberapa nama daerah yaitu bawang dayak (Palangkaraya, Samarinda); bawang hantu/kambe (Dayak); bawang sabrang, babawangan beureum, bawang siyem (Sunda); brambang sabrang, luluwan sapi, teki sabrang (Jawa); bawang sayup (Melayu) dan bawang lubak (Punan Lisum) (Depkes, 2001).

2.1.3 Morfologi

Tanaman ini memiliki warna umbi merah dengan daun hijau berbentuk pita dan bunganya berwarna putih. Ciri spesifik tanaman ini adalah umbi tanaman berwarna merah menyala dengan permukaan yang sangat licin. Letak daun berpasangan dengan komposisi daun bersirip ganda. Tipe pertulangan daun sejajar dengan tepi daun licin dan bentuk daun berbentuk pita berbentuk garis.

Selain digunakan sebagai tanaman obat tanaman ini juga dapat digunakan sebagai tanaman hias karena bunganya indah dengan warna putih yang memikat. Tanaman ini memiliki adaptasi yang baik, dapat tumbuh dalam berbagai tipe iklim dan jenis tanah.. Secara morfologi, umbi bawang dayak atau bawang sabrang menyerupai umbi bawang merah. Bentuk umbi bawang dayak berlapis-lapis, tetapi tiap lapisan memiliki ketebalan yang berbeda dengan bawang merah yang lapisan bulbusnya agak lembek. Ciri khas dari umbi bawang dayak adalah tidak berbau menyengat dan mengeluarkan zat yang menyebabkan mata pedih seperti bawang merah. Bawang dayak merupakan salah satu jenis anggrek tanah dengan bagian pangkal umbinya tumbuh daun menjulang sejajar. Daun bawang dayak seperti daun ilalang dengan garis-garis yang searah dengan bentuk tulang daun, menyerupai palem berbentuk pita sepanjang 15-20 cm dan lebar 3-5 cm. Tanaman ini berakar serabut. Jika ditempatkan dipot kecil berdiameter ± 5 cm, maka dalam waktu ± 45 hari seluruh pot akan terenuhi oleh akar serabut yang bentuknya melingkar. Bunga dari tanaman ini seperti bunga anggrek tanah dengan berwarna putih, bentuknya mungil, dan berkelopak lima (Ni Luh Indrawati, et al., 2013).

2.1.4 Habitat dan Distribusi Geografis

Bawang dayak atau bawang hantu (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr) merupakan tanaman khas Kalimantan Tengah. Tanaman ini sudah secara turun temurun dipergunakan masyarakat Dayak sebagai tanaman obat. Tanaman ini memiliki adaptasi yang baik, dapat tumbuh dalam berbagai tipe iklim dan jenis tanah lima (Ni Luh Indrawati, et al., 2013).

2.1.5 Kandungan umbi *Eleutherine palmifolia*

Hasil penapisan fitokimia pada bagian umbi menunjukkan adanya kandungan metabolit sekunder antara lain : alkaloid, glikosida, flavanoid, fenolik, kuinon, steroid, zat tanin dan minyak atsiri. Bagian daun dan akar mengandung flavonoida dan polifenol (Wardani R, 2009)

Tabel II.1 Senyawa yang terkandung dalam *E. palmifolia*
(Wardani R, 2009)

Jenis Pengujian	Jenis Ekstrak	
	Air	Etanol
Alkaloid	+++	++
Saponin	+	+
Tanin	+	++
Fenolik	++	+++
Flavonoid	-	+++
Triterpenoid	++++	++++
Steroid	+	+

Keterangan : - = negative, + = positif lemah, ++ = positif , +++ = positif kuat, ++++ = positif kuat sekali

2.1.6 Manfaat umbi *Eleutherine palmifolia*

Dalam umbi bawang dayak terkandung senyawa fitokimia yakni alkaloid, glikosida, flavonoid, fenolik, steroid dan tannin. Secara empiris bawang dayak sudah dipergunakan masyarakat lokal sebagai obat berbagai jenis penyakit seperti kanker payudara, obat penurun darah tinggi (Hipertensi), penyakit kencing manis (diabetes melitus), menurunkan kolesterol, obat bisul, kanker usus dan mencegah

stroke. (Miftahorachman, Balitka) Bawang dayak (dayak dimanfaatkan sebagai obat kanker payudara oleh masyarakat lokal Kalimantan, selain juga dapat digunakan untuk mengatasi gangguan jantung, meningkatkan daya tahan tubuh, sebagai antiinflamasi, antitumor serta dapat menghentikan pendarahan (Saptowalyono, 2007). Beberapa penelitian tentang bawang dayak telah dilakukan antara lain bulbus tanaman genus *Eleutherine*. Bulbus tanaman *Eleutherine bulbosa* dan *Eleutherine americana* diketahui mengandung senyawa metabolit sekunder golongan naftokuinon (elecanacin, eleutherin, eleutherol, eleutherinon) (Alves *et al.*, 2003; Han *et al.*, 2008; Nielsen dan Wege, 2006). Banyak senyawa turunan naftokuinon diketahui memiliki bioaktivitas sebagai antikanker maupun antioksidan, selain itu bersifat sangat toksik, umumnya digunakan sebagai antimikrobia, antifungal, antiviral dan antiparasit (Babula *et al.*, 2005)

2.2 *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan bakteri komensal yang dapat bersifat patogen, bertindak sebagai penyebab utama morbiditas dan mortalitas diseluruh dunia (Tenailon *et al.*, 2010).



Gambar 2.2 *Escherichia coli* (CDC,2015)

2.2.1 Taksonomi

Berdasarkan taksonominya *E. coli* diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom	: <i>Bacteria</i>
Divisio	: <i>Proteobacteria</i>
Kelas	: <i>Gamma Proteobacteria</i>
Ordo	: <i>Enterobacteriales</i>
Famili	: <i>Enterobacteriaceae</i>
Genus	: <i>Escherichia coli</i> . (Todar, 2008)

2.2.2 Morfologi dan Identifikasi

Escherichia coli diisolasi pertama kali oleh Theodore Escherich pada tahun 1885 dari tinja seorang bayi. *E. coli* merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang pendek yang memiliki panjang sekitar 2 μm , diameter 0,7 μm , lebar 0,4-0,7 μm dan bersifat anaerob fakultatif. *E. Coli* membentuk koloni yang bundar, cembung, dan halus dengan tepi yang nyata. Pada umumnya bakteri memerlukan kelembaban yang cukup tinggi sekitar 85% (Madigan dan Martinko, 2005).

Escherichia coli merupakan golongan bakteri mesofilik yaitu bakteri yang suhu pertumbuhan optimumnya 15-45°C dan dapat hidup pada pH 5,5-8. *E. Coli* akan tumbuh secara optimal pada suhu 27° C. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Hawa *et al.* (2011). *E. coli* memiliki suhu maksimum pertumbuhan 40-45°C, di atas suhu tersebut bakteri akan mengalami inaktivasi. Bentuk *Escherichia coli* bervariasi mulai dari bentuk kokus, sampai berbentuk filamen panjang. Beberapa strain mukoid menghasilkan polimer ekstraseluler yang secara umum dikenal sebagai antigen K dan asam polisakarida yang tersusun oleh *solanic acid* yang dikenal dengan antigen M. Bakteri ini menghasilkan berbagai jenis fimbriae yang penting selama penetrasi ke sel inang, dengan struktur dan antigen fimbriae yang berbeda pada setiap strain *Escherichia coli* (Scheutz and Strockbine, 2005). *Escherichia coli* biasanya berkolonisasi di saluran pencernaan dalam beberapa jam setelah masuk ke dalam tubuh dan membangun hubungan mutualistik. Namun, strain non-patogenik dari *E. coli* bisa menjadi patogen, ketika adanya gangguan di dalam pencernaan serta imunosupresi pada host (Sanz-Garcia *et al.*, 2009; Sharma *et al.*, 2011; Janny *et al.*, 2012). Penelitian yang dilakukan oleh Jawetz *et al.* (1996), menyatakan bakteri *E. coli* pada media EMBA membentuk koloni khas berwarna hijau metalik dengan pusat koloni berwarna gelap. Pada media SIM, bakteri *E. coli* bersifat motil dan menghasilkan indol. *E. coli* secara khas memberi hasil positif pada tes indol, lisin, dekarboksilase dan peragian manitol serta membentuk gas dari glukosa.

2.2.3 Patogenitas

Faktor- faktor patogenitas kuman *Escherichia coli* menurut Kaper (2005) :

1. Antigen permukaan

Terdapat dua jenis tipe fimbriae pada *Escherichia coli* yaitu tipe mannosa sensitif (pili) dan tipe mannosa resisten (CFAs I dan II). Kedua fimbriae ini digunakan sebagai faktor kolonisasi (*Colonization factor*) yaitu perlekatan sel kuman pada jaringan inangnya.

2. Enterotoksin

Enterotoksin yang telah diisolasi dari *Escherichia coli* ada dua yaitu toksin LT (*termolabil*) dan ST (*termostabil*). Kedua toksin ini diatur oleh plasmid yang mampu berpindah dari satu sel kuman ke sel kuman lainnya. Terdapat dua macam plasmid yaitu 1 plasmid yang mengkode pembentukan toksin LT dan ST dan 1 plasmid lainnya mengatur pembentukan ST saja. Toksin LT bekerja merangsang enzim adenil siklase yang terdapat di dalam sel epitel mukosa usus halus, menyebabkan akumulasi cairan di dalam usus dan mengakibatkan diare. Sedangkan toksin ST bekerja dengan cara mengaktifasi enzim guanilat siklase yang menghasilkan silik guanisin monofosfat, menjadi penyebab gangguan absorpsi klorida dan natrium juga menurunkan motilitas usus halus.

2.2.4 Faktor Virulensi *Escherichia coli*

Berdasarkan sifat dan karakteristik virulensinya, *Escherichia coli* diklasifikasikan menjadi lima kelompok (Jawetz *et al*, 2007), yaitu:

1. *Enteroinvasive E. coli* (EIEC)

Menyebabkan penyakit yang mirip dengan shigellosis dengan menyerang sel epitel mukosa usus (Jawetz *et al*, 2007),

2. *Enterogregative E. coli* (EAEC)

Menyebabkan diare yang akut dan kronis (dalam jangka waktu lebih dari 14 hari) dengan cara melekat pada mukosa intestinal, menghasilkan enterotoksin dan sitotoksin, sehingga terjadi kerusakan mukosa, pengeluaran sejumlah besar mukus, dan terjadi diare (Jawetz *et al*, 2007).

3. *Enteropathogenic E. coli* (EPEC)

Merupakan penyebab penting diare pada bayi, khususnya di negara berkembang. Bakteri ini melekat pada usus kecil. Infeksi EPEC dapat mengakibatkan diare cair yang sulit diatasi dan kronis (Jawetz *et al*, 2007).

4. *Enterotoxigenic E. coli* (ETEC)

Beberapa strain ETEC memproduksi eksotoksin yang sifatnya labil terhadap panas (LT) dan toksin yang stabil terhadap panas (ST). Infeksi ETEC dapat mengakibatkan gejala sakit perut, kadang disertai demam, muntah, dan pada feses ditemukan darah (Jawetz *et al*, 2007).

5. *Enterohemorrhagic E. coli* (EHEC)

Serotipe *E. coli* yang memproduksi verotoksin yaitu EHEC O157:H7. EHEC memproduksi toksin yang sifatnya hampir sama dengan toksin Shiga yang diproduksi oleh strain *Shigella dysenteriae*. Verotoksin yang dihasilkan menghancurkan dinding mukosa menyebabkan pendarahan (Jawetz *et al*, 2007).

2.3 Tinjauan Infeksi Akibat *Escherichia coli*

Infeksi merupakan suatu keadaan masuknya mikroorganisme ke dalam tubuh. Saat masuk ke dalam tubuh, bakteri harus melekat atau menempel pada sel penjamu, biasanya sel epitel. Setelah menempati tempat infeksi primer, bakteri-bakteri memperbanyak diri dan menyebar secara langsung ke aliran darah melalui jaringan atau sistem limfatik. Infeksi dapat bersifat sementara atau persisten yang memungkinkan bakteri menyebar luas dalam tubuh dan mencapai jaringan yang cocok untuk berkembang (Jawetz *et al*, 2007).

Infeksi *Escherichia coli* diasosiasikan dengan beberapa kondisi patologi, diantaranya infeksi saluran kemih, diare, sepsis dan meningitis. *Escherichia coli* menjadi penyebab terjadinya infeksi saluran kemih pada sekitar 90% wanita. Gejala dan tanda-tandanya seperti sering berkemih, nyeri pinggang dan hematuria. Tidak ada gejala khas dari infeksi *Escherichia coli* (Brooks *et al*, 2001).

Selain infeksi saluran kemih, *Escherichia coli* dapat menyebabkan diare. Diare yang disebabkan oleh *Escherichia coli* ini seringkali berupa diare berdarah dan dapat berkembang menjadi Hemolytic Uremic Syndrome (HUS) yang ditandai dengan gagal ginjal akut, trombositopenia, dan anemi hemolitik (Nirwati *et al*,

2008). Apabila pertahanan tubuh penjamu tidak kuat, maka *Escherichia coli* bisa mengakibatkan sepsis. Neonatus misalnya, sangat rentan dengan sepsis akibat *Escherichia coli* karena sedikitnya kadar antibody IgM (Brooks *et al.*, 2001).

2.3.1 Terapi

Antibiotik sudah lama digunakan untuk mengobati penyakit menular dan akhir-akhir ini telah cenderung berlebihan dan tidak rasional digunakan. Kecendrungan ini telah meningkatkan prevalensi antibiotik yang sebelumnya sensitif dalam melawan bakteri. Pemilihan antibiotik secara rasional tergantung pada diagnosis etiologi, yang mempertimbangkan tempat infeksi, usia, tempat dimana infeksi diperoleh, faktor mekanik sebagai predisposisi. Prinsip umum pengelolaan ISK adalah eradikasi bakteri penyebab dengan menggunakan antibiotika yang sesuai, serta mengoreksi faktor predisposisi. Obat-obat yang bias digunakan untuk pengobatan ISK antara lain; Amoksilin, Trimetropim, Sulfametoksazol, Kenamicyn, Gentamicyn (suyono *et al.* 2008).

2.4 Tinjauan Pewarnaan Gram

Salah satu teknik dari pewarnaan bakteri adalah pewarnaan gram, yang dapat dibedakan berdasarkan tipe dinding sel yang menyusun bakteri tersebut. Gram negatif. dinding sel pada bakteri gram negatif memiliki tambahan plasma membran dalam strukturnya. Membran luar ini terkadang toksik(beracun) bagi hewan dan dapat menimbulkan penyakit. Antibiotic penisilin bekerja paling baik untuk bakteri gram negatif ini. (Cappuccino, J.G., Sherman, N. 2014)

Tahapan dari pewarnaan gram dilakukan dengan cara teteskan satu sampai dua tetes aquades ditetaskan pada kaca objek, selanjutnya diambil koloni tunggal dari masing-masing isolat bakteri menggunakan jarum inokulasi kemudian disebar secara merata. Hasil olesan bakteri tersebut dibiarkan mengering dan difiksasi. Selanjutnya olesan bakteri ditetesi dengan larutan ungu Kristal-iodium selama satu menit dan dibilas dengan aquades. Kemudian olesan tersebut ditetesi oleh larutan iodim selama dua menit serta dibilas kembali dengan aquades. Olesan selanjutnya ditetesi dengan alcohol 95% selama 10 detik sampai zat warna tidak luntur lagi, dan kemudian dibilas menggunakan aquades. Tahap air dari proses pewarnaan ini

adalah dengan menambahkan pewarnaan pembanding seperti safranin selama 10-15 detik dan dibilas dengan aquades. Selanjutnya ditetesi minyak emersi lalu dilihat bentuk dan warna sel bakteri dibawah mikroskop dengan pembesaran 40x10 (Hadioetomo,1993).

2.5 Tinjauan Tentang Antimikroba

Antimikroba merupakan senyawa biologis atau kimia yang dapat mengganggu pertumbuhan dan aktivitas mikroba. Kadar minimal yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan mikroba atau membunuhnya, masing-masing dikenal sebagai kadar hambat minimal (KHM) dan kadar bunuh minimal (KBM) (Setiabudy, 2007).

Mekanisme penghambatan mikroorganisme oleh senyawa antimikroba dapat disebabkan oleh beberapa faktor, antara lain:

1. Menghambat Sintesis Dinding Sel

Dinding sel bakteri bermanfaat untuk melindungi bakteri dari pengaruh luar baik osmotik maupun mekanik. Dengan terhambatnya sintesis dinding sel akan membuat struktur dinding sel menjadi tidak sempurna. Oleh karena tekanan osmotik dalam sel lebih tinggi dibandingkan luar sel, maka kerusakan dinding sel kuman akan menyebabkan sel mengalami lisis (Setiabudy, 2007).

2. Merusak Membran Sel

Membran sel menjaga komposisi internal dari sel dengan cara berfungsi di dalam permeabilitas selektif dan proses transpor aktif. Rusaknya membran sel dapat menyebabkan zat-zat metabolit penting di dalam sel lolos keluar sel dan berakibat pada kematian sel (Dzen dkk, 2003).

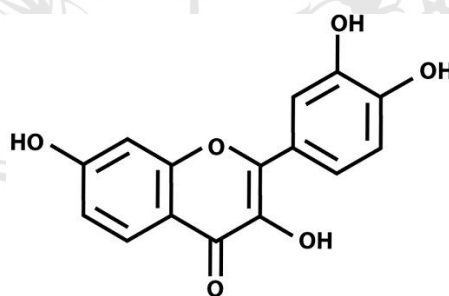
3. Menginaktivasi Enzim

Enzim dalam tubuh bakteri berperan dalam mempengaruhi jalannya reaksi biokimiawi. Enzim sangat peka terhadap pengaruh suhu dan beberapa agen kimiawi maupun pengaruh fisis tertentu. Bila salah satu enzim yang dibutuhkan dalam proses metabolisme dihambat dapat menyebabkan terjadinya penumpukan bahan-bahan metabolit yang bersifat toksis dan menyebabkan kematian pada sel (Dzen dkk, 2003).

2.5.1 Tinjauan Kandungan Senyawa Antimikroba Tanaman

Senyawa kimia dalam tanaman dapat bersifat antibakteri yaitu mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Beberapa metabolit sekunder yang mempunyai aktivitas antimikroba antara lain senyawa *fenol*, *alkaloid* dan *minyak atsiri* (Aditya, 2013). Penelitian yang dilakukan Parhusip (2006), bahwa kandungan bahan aktif seperti *flavonoid*, *phenols*, dan *alkaloid* dalam ekstrak andaliman dapat menyerang membran sitoplasma dan mempengaruhi integritasnya, kerusakan pada membran ini mengakibatkan peningkatan permeabilitas dan kebocoran sel yang diikuti dengan keluarnya materi intraseluler. Kebocoran sel bakteri dapat disebabkan karena rusaknya ikatan hidrofobik komponen penyusun membrane sel seperti protein, fosfolipid, serta komponen-komponen yang berikatan secara hidrofilik karena bereaksi dengan fenol, hal ini berakibat meningkatnya permeabilitas membran sel dan memungkinkan masuknya senyawa-senyawa fitokimia ke dalam sel, sehingga berakibat keluarnya substansi sel seperti protein dan asam nukleat yang mengakibatkan kematian sel (Aditya, 2013). Kandungan senyawa serupa yang terdapat pada umbi *Eleutherine palmifolia*(L) diduga mempunyai aktivitas antimikroba yang sama. Senyawa-senyawa antimikroba yang terkandung dalam umbi *Eleutherine palmifolia*(L) yaitu :

1. Flavonoid



Gambar 2.3 Struktur Flavonoid

Flavonoid tersebar luas di alam, terutama dalam tumbuhan tingkat tinggi dan jaringan muda. Efek flavonoid sangat banyak terhadap berbagai organisme dan efek ini dapat menjelaskan mengapa tumbuhan yang mengandung flavonoid dipakai dalam pengobatan. Flavonoid dapat bekerja sebagai antivirus, antialergi,

antimikroorganisme, dan antioksidan untuk mengendalikan radikal bebas yang dapat menyebabkan tumor (Farooq A *et al.*, 2007). Aktivitas antibakteri flavonoid disebabkan oleh kemampuannya untuk membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler dan dengan membran sel bakteri. Flavonoid yang bersifat lipofilik juga akan merusak membran sel bakteri (Cowan, 1999).

2. Alkaloid

Alkaloida merupakan golongan zat tumbuhan sekunder yang terbesar. Alkaloida mencakup senyawa bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen, biasanya sebagai bagian dari sistem siklik. Alkaloida mempunyai aktivitas fisiologi yang menonjol sehingga banyak yang diantaranya digunakan secara luas dalam bidang pengobatan. Kegunaan senyawa alkaloid pada tanaman diantaranya : melindungi tanaman dari serangan serangga, cadangan nutrisi untuk tanaman, dan sebagai hasil detoksifikasi racun pada tanaman. Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri ditunjukkan dengan kemampuan untuk berinteraksi dengan asam deoksiribosa nukleat (DNA) bakteri yakni dengan menempatkan diri dalam rantai DNA (Mega, 2014).

3. Glikosida

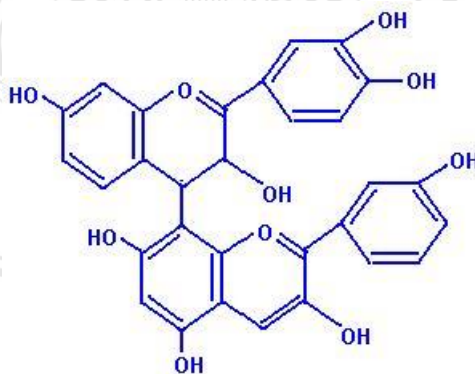
Saponin adalah glikosida triterpenoid dan sterol. Saponin berasal dari bahasa latin “*sapo*” yang berarti sabun, diberi nama demikian karena sifatnya yang menyerupai sabun. Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang kuat yang menimbulkan busa jika dikocok dalam air dan pada konsentrasi yang rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah merah. Dalam larutan yang sangat encer saponin sangat beracun untuk ikan, dan tumbuhan yang mengandung saponin telah digunakan sebagai racun ikan selama beratus-ratus tahun. Beberapa saponin juga bekerja sebagai antimikroba (Robinson, 1995). Senyawa saponin dapat bersifat antibakteri dengan merusak membran sel. Rusaknya membran menyebabkan substansi penting keluar sel dan juga dapat mencegah masuknya bahan-bahan penting ke dalam sel. Jika fungsi membran sel dirusak maka akan mengakibatkan kematian sel (Monalisa dkk., 2011). Oesman dkk. (2010) menyatakan bahwa

saponin adalah senyawa polar yang keberadaanya dalam tumbuhan dapat diekstraksi dengan pelarut semi polar dan polar.

4. Fenolik

Fenolik merupakan senyawa yang mengandung fenol (senyawa turunan fenol) yang secara kimiawi telah diubah untuk mengurangi kemampuannya dalam mengiritasi kulit dan meningkatkan aktivitas antibakterinya. Aktivitas antimikroba senyawa fenolik adalah dengan merusak lipid pada membran plasma mikroorganisme sehingga menyebabkan isi sel keluar (Pratiwi, 2008). Kemudian Septiadi dkk. (2013) menyatakan dalam penelitiannya bahwa senyawa fenolik bersifat fungistatik yang dapat mendenaturasi protein dinding jamur *Candida albicans* yang menyebabkan kerapuhan pada dinding sel tersebut sehingga mudah ditembus zat aktif lainnya yang bersifat fungistatik. Jika protein yang terdenaturasi adalah protein enzim maka enzim tidak dapat bekerja yang menyebabkan metabolisme dan proses penyerapan nutrisi terganggu Septiadi dkk. (2013).

5. Tanin



Gambar 2.4 Struktur Kimia Tanin

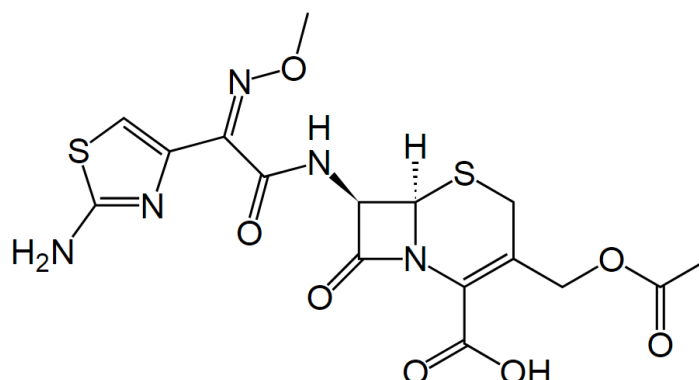
Tanin ditandai oleh sifatnya yang dapat menciutkan dan mengendapkan protein dari larutan dengan membentuk senyawa yang tidak larut (Sirait, 2007). Kadar tanin yang tinggi mungkin mempunyai arti pertahanan bagi tumbuhan, membantu mengusir hewan pemangsa tumbuhan. Beberapa tanin terbukti

mempunyai aktivitas antioksidan, menghambat pertumbuhan tumor dan menghambat enzim seperti enzim reverse transkriptase dan DNA topoisomerase. Tanin juga dapat meracuni hati (Robinson, 1995). Tanin tersebar luas dalam tumbuhan berpembuluh, dalam angiospermae terdapat khusus dalam jaringan kayu. Dalam industri, tanin adalah senyawa yang berasal dari tumbuhan, yang mampu mengubah kulit hewan yang mentah menjadi kulit siap pakai karena kemampuannya menyambung silang protein. Di dalam tumbuhan, letak tanin terpisah dari protein dan enzim sitoplasma, tetapi bila jaringan rusak, misalnya bila hewan memakannya, maka reaksi penyamakan dapat terjadi. Reaksi ini menyebabkan protein lebih sukar dicapai oleh cairan pencernaan hewan. Sebagian besar tumbuhan yang banyak bertanin dihindari oleh hewan pemakan tumbuhan karena rasanya yang sepat (Rustaman dkk., 2006). Secara garis besar tanin terbagi menjadi dua golongan: tanin dapat terhidrolisis, yang terbentuk dari esterifikasi gula (misalnya glukosa) dengan asam fenolat sederhana yang merupakan tanin turunan sikimat (misalnya asam galat), dan tanin tidak terhidrolisis yang kadang disebut tanin terkondensasi, yang berasal dari reaksi polimerasi (kondensasi) antar flavanoid (Heinrich dkk., 2009).

6. Steroid

Steroid adalah senyawa organik lemak sterol tidak terhidrolisis yang dapat dihasilkan dari reaksi penurunan dari terpena atau skualena. Steroid merupakan kelompok senyawa yang penting dengan struktur dasar sterana jenuh (bahasa Inggris: *saturated tetracyclic hydrocarbon*: 1,2 – cyclopentano-perhydro-phenanthrene) dengan 17 atom karbon dan 4 cincin (Dwilistiani, 2013). Monalisa dkk. (2011) menyatakan dalam penelitiannya bahwa senyawa steroid yang terkandung dalam ekstrak daun tapak liman merupakan senyawa antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* dengan konsentrasi ekstrak daun tapak liman 20%. Mekanisme kerja antibakteri senyawa steroid yaitu dengan cara merusak membran sel bakteri.

2.5.2 Mekanisme Kerja Sefataksim



Gambar 2.5 Struktur Kimia Sefataksim (USP)

Cefotaxim / Sefotaksim adalah sefalosporin yang paling sering digunakan. Resistensinya mencapai 23 % dan menjadi keprihatinan banyak pihak. Sefotaksim 9 adalah antibiotik golongan sefalosporin generasi ketiga yang mempunyai khasiat bakterisidal, bekerja dengan menghambat sintesis mukopeptida pada dinding sel bakteri. Sefotaksim stabil terhadap hidrolisis β -laktamase, maka Sefotaksim digunakan sebagai alternatif lini pertama pada bakteri yang resisten terhadap penisilin. Sefotaksim memiliki aktivitas spektrum yang lebih luas terhadap organisme Gram positif dan negatif. Akan tetapi aktivitas Sefotaksim lebih poten terhadap bakteri Gram negatif. Hal ini terbukti dari hasil rekapitulasi pemeriksaan kultur dan sensitivitas (Liu, *et al*,2014).

Sefotaksim termasuk golongan sefalosporin generasi III Golongan ini diindikasikan pada pasien dengan infeksi traktus respiratorius bawah, infeksi kulit atau struktur kulit, infeksi tulang dan sendi, infeksi intra-abdomen, dan infeksi traktus genitourinarius. Terapi *proven atau suspected* meningitis yang disebabkan oleh organisme seperti *H. influenzae* dan *N. meningitidis*, infeksi *Neisseria gonorrhoeae*, infeksi bakteri batang gram negative nonpseudomonas pada pasien dengan risiko mengalami nefrotoksisitas dan/atau ototoksisitas akibat aminoglikosida. Infeksi bakteri yang terbukti sensitive terhadap sefotaksim. Antibiotik ini dikontraindikasikan pada pasien dengan hipersensitivitas terhadap

sefotaksim, sefalosporin, atau komponennya. Dosis untuk bayi dan anak usia 1 bulan–12 tahun dengan berat badan <50 kg, 100–200 mg/kgBB/hari dibagi setiap 6–8 jam. Untuk berat badan ≥50 kg, infeksi sedang sampai berat diberikan 1–2 g setiap 6–8 jam, untuk infeksi yang mengancam jiwa diberikan 2 g/dosis setiap 4 jam dosis maksimum 12 g/hari. Untuk anak usia >12 tahun diberikan 1–2 g setiap 6–8 jam hingga 12 g/hari (IDAI, 2012).

Sefotaksim merupakan sefalosporin generasi ketiga dengan aktivitas yang lebih luas dibandingkan dengan generasi kedua, terhadap bakteri Gram negatif. Namun, antibiotik ini kurang aktif dibandingkan sefuroksim terhadap bakteri Gram positif, terutama *Staphylococcus aureus*. Spektrum antibakterinya yang luas ini dapat menyebabkan superinfeksi dengan bakteri atau jamur yang resisten. Sefotaksim memiliki aktivitas yang baik terhadap pseudomonas. Juga aktif terhadap bakteri Gram negatif. Seftriakson memiliki waktu paruh yang lebih panjang sehingga dapat diberikan satu kali sehari. Indikasi meliputi infeksi berat seperti septikemia, pneumonia dan meningitis. Garam kalsium dari seftriakson membentuk endapan dalam kandung kemih yang walau jarang tetapi dapat menimbulkan keluhan, namun dapat hilang jika dihentikan. Pada neonatus, seftriakson dapat menggeser bilirubin dari plasma albumin, oleh karena itu penggunaannya sebaiknya dihindari pada neonatus dengan hiperbilirubinemia yang tidak terkonjugasi, hipoalbuminemia, asidosis atau kegagalan pengikatan bilirubin (BPOM RI)

2.5.3 Resistensi Antibiotik

Resistensi adalah suatu keadaan karena pengaruh obat antiinfeksi terhadap kuman berkurang khasiatnya atau kuman tersebut tidak sensitif oleh perlakuan obat anti infeksi. Timbulnya resistensi mikroba terhadap obat antimikroba akibat perubahan genetik dan dilanjutkan dengan serangkaian proses seleksi obat oelh antimikroba pada dasarnya merupakan usaha mikroba agar dapat bertahan hidup. Bakteri menjadi resisten terhadap antimikroba ini menggunakan beberapa mekanisme,yaitu (Farmakologi dan Terapi, 2007) :

1. Obat tidak dapat mencapai tempat kerjanya di dalam sel mikroba

Pada kuman gram negatif, mikroba antimikroba yang kecil dan polar dapat menembus dinding luar dan masuk ke dalam sel melalui lubang-lubang kecil yang disebut porin. Bila porin menghilang atau mengalami mutasi maka masuknya antimikroba akan terhambat (Farmakologi dan Terapi, 2007).

2. Inaktivasi Obat

Mekanisme ini sering mengakibatkan terjadinya resistensi terhadap golongan aminoglikosida dan beta laktam karena mikroba mampu membuat enzim yang merusak kedua golongan antimikroba tersebut (Farmakologi dan Terapi, 2007).

3. Mikroba mengubah tempat ikatan (*binding site*) antimikroba

Contoh mekanisme ini terlihat pada *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap metisilin. Kuman ini mengubah *Penicillin Binding Protein* (PBP) sehingga afinitasnya menurun terhadap metisilin dan antibiotik beta laktam lainnya (Farmakologi dan Terapi, 2007).

2.5.4 Mekanisme Resistensi

Ada beberapa mekanisme yang menyebabkan suatu populasi bakteri menjadi resisten terhadap obat antimikroba, yaitu; (Dzen, 2003)

1. Mikroba memproduksi enzim yang merusak obat
2. Mikroba mengubah permeabilitas membran selnya
3. Mikroba mengubah struktur target terhadap obat
4. Mikroba mengembangkan jalan metabolisme baru, contohnya bakteri yang resisten terhadap sulfonamide mampu mengambil asam folat dari luar selnya
5. Mikroba mengembangkan enzim yang tetap berfungsi untuk metabolismenya, tetapi tidak dipengaruhi oleh obat, contohnya resisten terhadap trimetoprim
6. Mikroba memperbesar produksi bahan metabolit

2.6 Tinjauan Uji Kepekaan Terhadap Aktivitas Antimikroba Secara In Vitro

Uji kepekaan antimikroba terhadap obat-obatan secara in vitro bertujuan untuk mengetahui obat antimikroba yang masih dapat digunakan untuk mengatasi

infeksi oleh suatu mikroba (Dzen *et al.*, 2003). Pengujian aktivitas antimikroba secara in vitro dapat dilakukan dengan salah satu dari metode dibawah ini:

2.6.1 Metode Difusi Cakram

Metode yang paling sering digunakan adalah metode difusi cakram. Difusi cakram dapat dilakukan dengan cara obat dijenuhkan kedalam kertas saring (cakram kertas). Cakram kertas yang mengandung obat tertentu ditanam pada media perbenihan agar padat yang telah dicampur dengan mikroba uji, kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Selanjutnya diamati adanya area jernih di sekitar cakram kertas yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan mikroba (Dzen *et al.*, 2003).

Pada metode ini yang diamati adalah diameter daerah hambatan pertumbuhan kuman karena difusinya obat ini titik awal pemberian ke daerah difusi sebanding dengan kadar obat yang diberikan. Metode ini dilakukan dengan cara menanam kuman pada media agar padat tertentu kemudian diletakkan kertas sumir atau disk yang mengandung obat atau dapat juga dibuat seumuran kemudian diisi obat dan dilihat hasilnya (Jawetz *et al.*, 2007).

Cakram kertas filter yang mengandung jumlah obat tertentu ditempatkan diatas permukaan medium padat yang telah diinokulasikan pada permukaan dengan organisme uji. Setelah itu, diameter zona jernih inhibisi disekitar cakram diukur sebagai ukuran kekuatan inhibisi obat melawan organisme uji tertentu. Banyak faktor fisik dan kimia yang mempengaruhi metode ini selain interaksi sederhana antara obat dan organisme (misalnya : ukuran molekul, sifat medium, dan stabilitas obat). Namun, standarisasi keadaan sangat memungkinkan penentuan kerentanan organisme (Jawetz *et al.*, 2007).

Pada metode difusi, media yang dipakai adalah agar Mueller Hinton. Ada beberapa cara pada metode difusi ini, yaitu :

1) Cara Kirby-Bauer

Cara Kirby-Bauer merupakan suatu metode uji sensitivitas bakteri yang dilakukan dengan membuat suspensi bakteri pada media *Brain Heart Infusion* (BHI) cair dari koloni pertumbuhan kuman 24 jam, selanjutnya disuspensikan dalam 0,5 ml BHI cair (diinkubasi 4-8 jam pada suhu 37°C). Hasil inkubasi bakteri

diencerkan sampai sesuai dengan standar konsentrasi kuman 10⁸ CFU/ml (CFU : *Coloni Forming Unit*). Suspensi bakteri diuji sensitivitas dengan meratakan suspensi bakteri tersebut pada permukaan media agar. Disk antibiotik diletakkan di atas media tersebut dan kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 19-24 jam. Dibaca hasilnya :

a) Zona radical

Suatu daerah disekitar disk dimana sama sekali tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri. Potensi antibiotik diukur dengan mengukur diameter dari zona radical.

b) Zona iradical

Suatu daerah disekitar disk yang menunjukkan pertumbuhan bakteri dihambat oleh antibiotik tersebut, tapi tidak dimatikan. Disini akan terlihat adanya pertumbuhan yang kurang subur atau lebih jarang dibanding dengan daerah diluar pengaruh antibiotik tersebut (Jawetz *et al.*, 2001).

2) Cara sumuran

Suspensi bakteri 10⁸CFU/ml diratakan pada media agar, kemudian agar tersebut dibuat sumuran dengan garis tengah tertentu menurut kebutuhan. Larutan antibiotik yang digunakan ditetaskan kedalam sumuran. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Dibaca hasilnya, seperti pada cara Kirby-Bauer (Jawetz *et al.*, 2001).

3) Cara *Pour Plate*

Setelah dibuat suspensi kuman dengan larutan BHI sampai konsentrasi standar (10⁸CFU/ml), lalu diambil satu mata ose dan dimasukkan kedalam 4ml agar base 1,5% dengan temperatur 50°C. Suspensi kuman tersebut dibuat homogen dan dituang pada media agar Mueller Hinton. Setelah beku, kemudian dipasang disk antibiotik (diinkubasi 15-20 jam pada suhu 37°C) dibaca dan

2.6.2 Metode Dilusi

Cara ini digunakan untuk menentukan KHM (Kadar Hambat Minimal) dan KBM (Kadar Bunuh Minimal) dari obat antimikroba. Prinsip dari metode dilusi yaitu menggunakan satu seri tabung reaksi yang diisi media cair dan sejumlah tertentu sel mikroba yang diuji. Kemudian masing-masing tabung diisi dengan obat

yang telah diencerkan secara serial. Selanjutnya, seri tabung di inkubasi pada suhu 37°C selama 18 – 24 jam dan diamati terjadinya kekeruhan pada tabung. Konsentrasi terendah obat pada tabung yang ditunjukkan dengan hasil biakan yang mulai tampak jernih (tidak ada pertumbuhan mikroba) adalah KHM dari obat.. Selanjutnya biakan dari semua tabung yang jernih di inokulasi pada media agar padat, diinkubasi dan keesokan harinya diamati ada tidaknya koloni mikroba yang tumbuh. Konsentrasi terendah obat pada biakan padat yang ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni mikroba adalah KBM dari obat terhadap bakteri uji (Dzen, dkk, 2003).

2.7 Tinjauan Tentang Ekstrak

Ekstraksi adalah penyarian zat-zat berkhasiat atau zat-zat aktif dari bagian tanaman obat, hewan dan beberapa jenis ikan termasuk biota laut. Zat-zat aktif terdapat di dalam sel, namun sel tanaman dan hewan berbeda demikian pula ketebalannya, sehingga diperlukan metode ekstraksi dengan pelarut tertentu dalam mengekstraksinya. Tujuan ekstraksi bahan alam adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada bahan alam. Ekstraksi ini didasarkan pada prinsip perpindahan massa komponen zat ke dalam pelarut, dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut (Dirjen POM, 1999).

2.8 Tinjauan Tentang Jenis Ekstraksi

(Dirjen POM, 1986) Jenis ekstraksi bahan alam yang sering dilakukan adalah ekstraksi secara panas dengan cara refluks dan penyulingan uap air dan ekstraksi secara dingin dengan cara maserasi, perkolasi dan alat soxhlet.

2.9 Tinjauan Tentang cara-cara ekstraksi (Seidel V 2006).

a. Ekstraksi secara soxhletasi

Ekstraksi dengan cara ini pada dasarnya ekstraksi secara berkesinambungan. Cairan penyari dipanaskan sampai mendidih. Uap penyari akan naik melalui pipa samping, kemudian diembunkan lagi oleh pendingin tegak. Cairan penyari turun untuk menyari zat aktif dalam simplisia. Selanjutnya bila

cairan penyari mencapai sifon, maka seluruh cairan akan turun ke labu alas bulat dan terjadi proses sirkulasi. Demikian seterusnya sampai zat aktif yang terdapat dalam simplisia tersari seluruhnya yang ditandai jernihnya cairan yang lewat pada tabung sifon

b. Ekstraksi secara perkolasi Perkolasi

Dilakukan dengan cara dibasahkan 10 bagian simplisia dengan derajat halus yang cocok, menggunakan 2,5 bagian sampai 5 bagian cairan penyari dimasukkan dalam bejana tertutup sekurang-kurangnya 3 jam. Massa dipindahkan sedikit demi sedikit ke dalam perkolator, ditambahkan cairan penyari. Perkolator ditutup dibiarkan selama 24 jam, kemudian kran dibuka dengan kecepatan 1 ml permenit, sehingga simplisia tetap terendam. Filtrat dipindahkan ke dalam bejana, ditutup dan dibiarkan selama 2 hari pada tempat terlindung dari cahaya.

d. Ekstraksi secara refluks

Ekstraksi dengan cara ini pada dasarnya adalah ekstraksi berkesinambungan. Bahan yang akan diekstraksi direndam dengan cairan penyari dalam labu alas bulat yang dilengkapi dengan alat pendingin tegak, lalu dipanaskan sampai mendidih. Cairan penyari akan menguap, uap tersebut akan diembunkan dengan pendingin tegak dan akan kembali menyari zat aktif dalam simplisia tersebut, demikian seterusnya. Ekstraksi ini biasanya dilakukan 3 kali dan setiap kali diekstraksi selama 4 jam.

e. Ekstraksi secara penyulingan

Penyulingan dapat dipertimbangkan untuk menyari serbuk simplisia yang mengandung komponen kimia yang mempunyai titik didih yang tinggi pada tekanan udara normal, yang pada pemanasan biasanya terjadi kerusakan zat aktifnya. Untuk mencegah hal tersebut, maka penyari dilakukan dengan penyulingan.

2.10 Tinjauan Tentang Metode Ekstraksi

Tahapan proses pembuatan ekstrak (Dirjen POM, 1999) :

a. Pembuatan serbuk simplisia

Proses awal pembuatan ekstrak adalah pembentukan serbuk simplisia kering dengan peralatan tertentu sampai derajat kehalusan tertentu. Proses ini dapat

mempengaruhi mutu ekstrak, karena semakin halus serbuk simplisia proses ekstraksi akan semakin efektif dan efisien.

b. Cairan penyari

Cairan penyari proses pembuatan ekstrak adalah pelarut yang optimal untuk zat kandungan berkhasiat, dengan demikian zat tersebut dapat dipisahkan dari bahan dan zat kandungan lainnya serta ekstrak hanya mengandung sebagian besar zat kandungan yang diinginkan.

c. Separasi dan pemurnian

Tahap ini bertujuan untuk menghilangkan zat yang tidak dikehendaki semaksimal mungkin tanpa dipengaruhi zat kandungan yang dikehendaki. Dalam hal ini termasuk juga pemisahan dari sisa pelarut yang tidak dikehendaki.

d. Pemekatan dan penguapan

Pemekatan berarti peningkatan jumlah atau konsentrasi zat terlarut dengan cara menguapkan pelarut sampai menjadi kandungan kering sehingga ekstrak menjadi kental atau pekat.

e. Pengeringan ekstrak

Dilakukan dengan menghilangkan pelarut dari bahan sehingga menghasilkan serbuk, massa kering dan rapuh tergantung proses dan peralatan yang digunakan. Terdapat berbagai macam cara untuk memperoleh ekstrak dari suatu tanaman, salah satunya yaitu menggunakan metode ekstraksi maserasi.

f. Ekstraksi secara maserasi

Maserasi dilakukan dengan cara memasukkan 10 bagian simplisia dengan derajat yang cocok ke dalam bejana, kemudian dituangi dengan penyari 75 bagian, ditutup dan dibiarkan selama 5 hari, terlindung dari cahaya sambil diaduk sekali-kali setiap hari lalu diperas dan ampasnya dimaserasi kembali dengan cairan penyari. Penyarian diakhiri setelah pelarut tidak berwarna lagi, lalu dipindahkan ke dalam bejana tertutup, dibiarkan pada tempat yang tidak bercahaya, setelah dua hari lalu endapan dipisahkan.

2.11 Tinjauan Tentang Pelarut

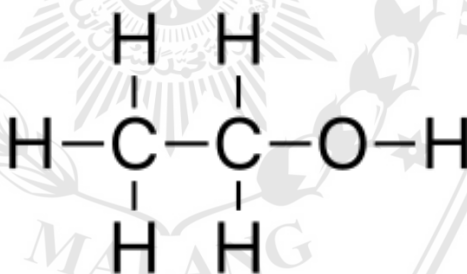
Pelarut didefinisikan sebagai benda cair atau gas yang melarutkan benda padat, cair atau gas yang menghasilkan sebuah larutan. Berbagai pelarut dapat

digunakan untuk ekstraksi, akan tetapi pelarut toksik harus dihindari. (Agoes, 2007).

Diperlukan beberapa pertimbangan dalam pemilihan pelarut yakni :

1. Selektivitas
2. Kemudahan bekerja dan proses dengan cairan tersebut
3. Ekonomis
4. Ramah lingkungan
5. Keamanan

Pada penelitian kali ini menggunakan proses fraksinasi. Fraksinasi merupakan prosedur pemisahan yang bertujuan memisahkan golongan utama kandungan yang satu dari kandungan yang lain. Fraksi yang digunakan adalah fraksi n-heksana, etil asetat, dan etanol. Prinsipnya adalah melarutkan senyawa polar dalam pelarut polar dan melarutkan senyawa non polar dalam pelarut non polar. Secara umum, dilakukan secara berturut-turut mulai dengan pelarut non polar (n-heksan) lalu pelarut yang semipolar (diklor metan atau etil asetat) kemudian pelarut yang bersifat polar (methanol atau etanol) (Sa'ad, 2009).



Gambar 2.6 Rumus struktur etanol (FI IV).

Ethyl alkohol atau etanol adalah salah satu turunan dari senyawa hidroksil atau gugus OH, dengan rumus kimia $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$. Istilah umum yang sering dipakai untuk senyawa tersebut, adalah alkohol. Etanol mempunyai sifat tidak berwarna, mudah menguap, mudah larut dalam air, berat molekul 46,1, titik didihnya $78,3^\circ\text{C}$, membeku pada suhu $-117,3^\circ\text{C}$, kerapatannya 0,789 pada suhu 20°C , nilai kalor

7077 kal/gram, panas latent penguapan 204 kal/gram dan angka oktan 91–105 (Hambali., *et al.*, 2008).

C_2H_5OH yang diberi nama etil alkohol (etanol), dan C_3H_7OH yang disebut isopropil alkohol (IPA) atau propanol- 2. Dalam dunia perdagangan yang disebut alkohol adalah etanol atau etil alkohol atau metil karbinol dengan rumus kimia C_2H_5OH (Rama, 2008).

Etanol disebut juga etil alkohol dengan rumus kimia C_2H_5OH atau CH_3CH_2OH dengan titik didihnya $78,4^{\circ}C$. Etanol memiliki sifat tidak berwarna, volatil dan dapat bercampur dengan air. Ada 2 jenis etanol menurut Rama (2008). Etanol sintetik sering disebut metanol atau metil alkohol atau alkohol kayu, terbuat dari etilen, salah satu derivat minyak bumi atau batu bara. Bahan ini diperoleh dari sintesis kimia yang disebut hidrasi, sedangkan bioetanol direkayasa dari biomassa (tanaman) melalui proses biologi (enzimatik dan fermentasi). Mengingat pemanfaatan bioetanol/ etanol beraneka ragam, sehingga *grade* etanol yang dimanfaatkan harus berbeda sesuai dengan penggunaannya. Untuk etanol yang mempunyai *grade* 90-96,5% dapat digunakan pada industri, sedangkan etanol yang mempunyai *grade* 96-99,5% dapat digunakan sebagai campuran untuk miras dan bahan dasar industri farmasi. Besarnya *grade* etanol yang dimanfaatkan sebagai campuran bahan bakar untuk kendaraan sebesar 99,5- 100%. Perbedaan besarnya *grade* akan berpengaruh terhadap proses konversi karbohidrat menjadi gula (glukosa) larut air (Indyah, 2007).

Sifat-sifat fisika etanol dapat dilihat dalam tabel berikut :

Tabel II.2 Sifat-sifat fisika etanol (Indyah, 2007)

Sifat Fisika dan Kimia Etanol	Keterangan
Titik Didih normal, °C, 1 atm	+ 78,32
Tekanan Kritis, °C	6383 48
Suhu Kritis	243,1
Volume Kritis, L/mol	0,167
Densitas, d₄₂₀, g/ml	0,7893
Viskositas pada 20, °C , mPas (=cP)	1,17
Kelarutan dalam air	20 °C
Autoignition temperatur	793,0 °C
Titik Nyal	14 °C

Sifat kimia dari etanol pada umumnya berkaitan dengan gugus hidroksilnya. Contoh dari sifat kimia tersebut adalah terjadinya reaksi kimia diantaranya: reaksi dehidrasi, dehidrogenasi, oksidasi, dan esterifikasi. Atom hidrogen pada gugus hidroksil dapat diganti dengan logam aktif seperti natrium, kalium, dan kalsium membentuk etoksida logam (ethylate) dengan melepaskan gas hidrogen (Rama 2008).

2.12 Tinjauan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi merupakan suatu teknik analisis biokimia berdasarkan metode pemisahan yang memerlukan waktu relatif singkat dan tidak membutuhkan alat yang rumit dibandingkan metode pemisahan lainnya (Bintang, 2011). Prinsip KLT dengan melarutkan campuran dalam fase bergerak (cairan atau gas) yang mengalir melalui fase diam atau stasioner. Zat-zat yang hendak dipisahkan harus berinteraksi dengan fase stasioner dengan kuat yang berbeda-beda. Interaksi ini dapat bersifat adsorpsi, partisi, pertukaran ion, pengayakan molekuler atau yang lainnya (Pudjaatmaka, 2002).

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) bersama-sama dengan berbagai macam variasinya pada umumnya dirujuk sebagai kromatografi planar. Kromatografi lapis tipis, fase diamnya berupa lapisan yang seragam (uniform) pada permukaan bidang

datar yang didukung oleh lempeng kaca, plat aluminium atau plat plastik. Meskipun demikian kromatografi planar ini dapat dikatakan sebagai bentuk terbuka dari kromatografi kolom (Rohman, 2009).

1. Fase Diam

Penyerap yang umumnya adalah silika gel, aluminium oksida, kieselgur, selulosa dan turunannya, poliamida, dan lain-lain. Fase diam yang digunakan dalam KLT merupakan penjerap berukuran kecil dengan diameter partikel antara 10-30 μm . Semakin kecil ukuran rata-rata partikel fase diam dan semakin sempit kisaran ukuran fase diam, maka semakin baik kinerja KLT dalam hal efisiensi dan resolusinya (Rohman, 2009).

2. Fase Gerak

Fase gerak ialah medium angkut dan terdiri atas satu atau beberapa pelarut. Bergerak dalam fase diam, yaitu suatu lapisan berpori, karena adanya gaya kapiler. Yang digunakan hanyalah pelarut bertingkat mutu analitik dan bila diperlukan, sistem pelarut multikomponen ini harus berupa suatu campuran sesederhana mungkin yang terdiri atas maksimum 3 komponen. Angka banding campuran dinyatakan dalam berbagai volume sedemikian rupa sehingga volume total 100. Contoh pelarut yang sering digunakan untuk kromatografi lapis tipis adalah n-heksana, heptana, sikloheksana, benzene, kloroform, eter, etil asetat, aseton, etanol, methanol, dan air (Rohman, 2009).

Kromatografi digunakan sebagai untuk memisahkan substansi campuran menjadi komponen-komponennya. Analisis dengan menggunakan KLT dapat digunakan untuk mengidentifikasi simplisia yang kelompok kandungan kimianya sudah diketahui. Kelompok kandungan kimia seperti : alkaloid, antraglikosida, arbutin, glikosida jantung, zat pahit, flavonoid, saponin, minyak atsiri, kumarin, dan asam fenol karboksilat. Komponen yang terdapat dalam ekstrak etanol umbi bawang dayak dianalisis golongan senyawanya dengan tes uji warna dengan beberapa pereaksi untuk golongan senyawa alkaloid, tanin dan polifenol, saponin, kardenolin dan bufadienol, flavonoid, dan antrakuinon. Pereaksi-pereaksi spesifik yang digunakan kebanyakan bersifat polar sehingga bisa berinteraksi dengan sampel berdasarkan prinsip '*like dissolve like*'. Pada uji alkaloid dengan pereaksi

Dragendorff, nitrogen digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan K^+ yang merupakan ion logam. (Shakhashiri, 2009)

2.13 Tinjauan tentang Standart Mc Farland

Standar McFarland digunakan untuk standarisasi perkiraan jumlah bakteri dalam cairan suspensi dengan membandingkan kekeruhan uji suspensi dengan Standar McFarland. Standar McFarland adalah larutan kimia dari barium klorida dan asam sulfat, reaksi antara kedua bahan kimia ini menghasilkan produksi endapan halus, barium sulfat. Saat pengocokan dengan baik, kekeruhan sebuah McFarland Standar secara visual sebanding dengan bakteri suspensi konsentrasi. Harus dengan pengocokan yang baik dan diberi aliquot ke dalam test tabung identik dengan yang digunakan untuk menyiapkan suspensi inokulum. Setelah aliquoted dimasukkan ke dalam tabung, tabung harus ditutup rapat agar tidak terjadi evaporasi. Sebelum digunakan, kocok dengan baik pastikan bahwa barium sulfat didistribusikan secara merata sepanjang solusinya. Standar yang paling umum digunakan dalam Laboratorium mikrobiologi klinis adalah 0,5 Standar McFarland, yang diresepkan untuk uji kepekaan dan kepekaan antimikroba pengujian kinerja pada media (McFarland J, Reviewed: October 2014).

Tabel II.3 Tabel Standar kekeruhan menurut Mc Farland
(McFarland J, Oktober 2014)

Cat No.	McFarland Standard	1% BaCl₂ (mL)	1% H₂SO₄ (mL)	Approximate Bacterial Suspension / mL
TM50	0.5	0.05	9.95	1.5×10^8
TM51	1.0	0.10	9.90	3.0×10^8
TM52	2.0	0.20	9.80	6.0×10^8
TM53	3.0	0.3	9.7	9.0×10^8
TM54	4.0	0.4	9.6	1.2×10^8
TM55	5.0	0.5	9.5	1.5×10^9
TM56	6.0	0.6	9.4	1.8×10^9
TM57	7.0	0.7	9.3	2.1×10^9
TM58	8.0	0.8	9.2	2.4×10^9
TM59	9.0	0.9	9.1	2.7×10^9
TM60	10.0	1.0	9.0	3.0×10^9

Tabel II.4 Klasifikasi Respon Hambat Pertumbuhan Bakteri

Diamter zona hambat	Respon hambat pertumbuhan
>20 mm	Sangat kuat
10 - 20 mm	Kuat
5 - 10 mm	Sedang
< 5 mm	Lemah

(Sumber : Pratama, 2005)